UNTERSUCHUNGEN
ÜBER PRÄZIPITIERENDE ANTIKÖRPER
BEI DER MAREKSCHEN KRANKHEIT

Siegmar Fastner

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546014_0007

Aus dem Tiergesundheitsdienst Bayern e.V.
Fachabteilung Geflügelgesundheitsdienst und Pelztiere
Tierärztliche Leitung: Priv.Doz.Dr.P.Dorn

UNTERSUCHUNGEN ÜBER PRÄZIPITIERENDE ANTIKÖRPER BEI DER MAREKSCHEN KRANKHEIT

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Siegmar Fastner
aus Prachatitz

München 1971

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof.Dr. J.Boessneck

Referent: Priv.Doz.Dr. P.Dorn

Korreferent: Priv.Doz.Dr. H.Mahnel

Tag der Promotion: 11. 2. 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen Eltern

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

		Seite
A.	EINLEITUNG	1
B.	LITERATUR	2
C.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	11
	I. Material und Methoden	11
	1. Versuchstiere und deren Haltungsbedingungen	11
	2. Seren und Blutentnahme	11
	3. Antigene	11
	4. Agar - Gel - Präzipitationstest	12
	II. Verfolgsuntersuchungen von Elterntierherden auf präzipitierende Marek-Antikörper	13
	III. Untersuchungen von Eintagsküken auf präzipitierende Marek - Antikörper	17
	1. Untersuchungen über maternale Antikörper	17
	2. Untersuchungen über maternale Antikörper Marek-vakzinierter und nicht vakzinierter Eintagsküken	18
	a) mit A - B - C - Antigengemisch	18
	b) mit A - Antigen	18
	c) mit A - Antigen und B - C - Antigengemisch	20
	IV. Untersuchungen über die Bildung präzipitierender Antikörper nach unterschiedlicher Vakzine-Konzentration	20
D.	DISKUSSION	24
E.	ZUSAMMENFASSUNG	28
F.	LITERATURVERZEICHNIS	30

A. EINLEITUNG

Die Mareksche Krankheit ist die wirtschaftlich bedeutungsvollste Geflügelkrankheit. Ihre Bekämpfung wurde durch das Auftreten einer akuten Form mit Tumorbildung besonders aktuell.
Durch die Isolierung des Erregers der Marekschen Krankheit und seine Identifizierung als Virus der Herpesgruppe waren die Voraussetzungen für eine Bekämpfung der Krankheit geschaffen.
Parallel zu den ersten Berichten über Erfolge bei Vakzinationen gegen die Mareksche Krankheit wurden Ergebnisse über den Nachweis präzipitierender Marek - Antikörper bekannt.
Mir war die Aufgabe gestellt mit Hilfe des Agar - Präzipitationstestes entsprechende Reihen - Untersuchungen durchzuführen.

B. LITERATUR

Der Erreger der Marekschen Krankheit wurde von Churchill und Biggs (1967) isoliert und der Herpesvirusgruppe B zugeordnet (Churchill und Biggs 1968). Weitere Autoren (Churchill 1968, Nazerian et al. 1968 a, Witter et al. 1968 a, Burmester et al. 1969, Lee et al. 1969, Nazerian et al. 1968 b, Witter et al. 1969 b, Biggs et al. 1968) bestätigten diese Ergebnisse.
Das Marek - Virus wurde im Nasen - und Mundhöhlensekret (Kenzy und Biggs 1967, Witter et al. 1968 b), im Kot von Hühnern (Witter et al. 1968 b) und in den Schuppen der Federfollikel (Calnek et al. 1970, Rispens und Mit. 1971) nachgewiesen.
Nach Colwell und Schmittle (1968) ist das Virus hoch kontagiös. Die ubiquitäre Verbreitung des Virus erklärt sich nach obigen Autoren aus dem hohen Anteil, abgeschilferter, virushaltiger Federfollikelepithelien im Stallstaub. Hier kommt das Virus auch in zellfreier Form vor (Calnek und Mit. 1969) und kann in dieser Form monatelang infektiös bleiben.
Die Verbreitung des Virus erfolgt vor allem auf aerogenem Wege. (Calnek und Mit. 1970)
Eiübertragungen d.h. vertikale Infektionen haben nach Solomon und Mit. (1970) und Witter (1970) praktisch keine Bedeutung. Diese Untersuchungen stehen im Gegensatz zu Sevoian, der 1968 von Eiübertragungen des Virus sprach.
Das Virus scheint in allen Ländern mit Geflügelintensiver Produktion ubiquitär zu sein.
Neben zahlreichen Untersuchungen in Amerika berichten Ianconescu und Samberg (1971) über entsprechende Reihenuntersuchungen in Israel.

Kawamura und Mit. (1969) gelang es, aus Nierenzellkulturen erwachsener Puten ein zytopathogenes Virus zu isolieren, das eine streng zellassoziierte Infektiosität aufwies. Das Virus konnte als Herpesvirus der Gruppe B identifiziert werden.

Aus Blut und Nieren von Puten konnte Witter und Mit. (1970), ebenfalls zytopathogene Herpesviren in Kükennieren - und Entenembryofibroblastenkulturen anzüchten. Diese Isolate zeigten in vitro eine streng zellassoziierte Infektiosität, synzitiumähnliche Zytopathologie, intranukleare Einschlußkörperchen (Typ A), Hemmung der Plaquebildung durch 5 - Bromdeoxyuridin und herpesvirusähnliche Partikel. Nach obigen Autoren verhielten sich diese Putenherpes - Isolate alle serologisch identisch.

Das Putenherpesvirus ist weder für Puten noch für Hühner pathogen. Die Isolierung dieses Virus und das Vorkommen spezifischer Präzipitine zeigen jedoch, daß beide Wirtstiere für eine Infektion empfänglich sind. Die Ergebnisse der Agar - Gel - Präzipitation, des Fluoreszenz - Antikörpernachweises und Neutralisationstests ließen nach Witter und Mit. (1970) zwischen Putenherpes - und Marek - virus eine Antigen - Verwandschaft vermuten.
Im Gegensatz zu pathogenen Marekvirus - Isolaten erwies sich das Putenherpesvirus für Küken als apathogen, bildet in Zellkulturen schneller größere Plaques und häufig intrazelluläre Einschlußkörperchen. In Putenzellkulturen verursachen Marekvirus - Stämme keine spezifischen Veränderungen; gegenüber diesen virulenten Marekisolaten zeigen Putenküken im Gegensatz zu Hühnerküken erhöhte Wiederstandskraft.

Von Witter und Mit. (1970) wird das Putenherpes - und Marek - Virus der Herpesgruppe B zugeordnet.

Eidson und Anderson (1971)bezweifeln eine Antigenverwandschaft. In ihren Versuchen reagierten im Fluoreszenztest weder Marekantikörper mit Putenherpesantigen noch zeigten im Agar - Gel - Diffusionstest Marekantigen mit Putenherpesvirusantiseren eine Reaktion.
Der Agar - Gel - Präzipitationstest wurde von Woernle (1966) für die praktische Diagnostik ausgebaut. Er ist für Routinearbeiten in diagnostischen Labors besonders geeignet, da er wenig Aufwand erfordert und schnelle Ergebnisse bringt. In diesem Test werden die im Serum erscheinenden Präzipitine erfaßt, indem sie mit dem entsprechendem Antigen eine sichtbare Reaktion zeigen, die im Agar als helle Banden sichtbar sind. Der Präzipitationstest eignet sich also für den indirekten Nachweis von Marekinfektionen bei Einzeltieren oder Herden.

Im Agar - Gel - Diffusionstest wiesen 1968 Chubb und Churchill zum erstenmal Marekpräzipitine nach. Die dafür notwendigen spezifischen präzipitierenden Marekantigene ließen sich ausschließlich von infizierten Zellkulturen gewinnen.
In infizierten, embryonierten Eiern und Küken gelingt es bisher nicht, präzipitierende, ausreichende Antigen - Konzentration zu erhalten.
Chubb und Churchill (1968) entdeckten ein zellfreies Antigen und bezeichneten esals A - Antigen. Aus dem Medium stark infizierter Kulturen konnten die Autoren dieses zellfreie A- Antigen durch 50 - 100 fache Konzentrierung (Fällung mit Ammoniumsulfat oder Vakuumdialyse) gewinnen.

Churchill und Mit. (1969) wiesen zwei weitere zellständige Antigene nach, die sogenannten B - und C - Antigene. Zu ihrer Herstellung werden nach Churchill und Mit. (1969) Kulturen benötigt, deren infizierter Zellrasen zu mindestens 5 0 % verändert ist. Diese Zellen müssen in einer Mindestkonzentration von 10^6/0,1 ml Medium aufgeschwemmt werden, um das B - C Antigen zum Nachweis bringen zu können.

Nach Chubb und Churchill (1968) ist das A - Antigen allen Marek - Feldstämmen gemeinsam. Churchill und Mit. (1969) konnten das A - Antigen nach Attenuierung des HPRS - 16 - Stammes (akute Marek) jedoch nicht mehr nachweisen. Analog dazu bildeten Küken in ihren Versuchen nach Infektion mit diesem attenuierten HPRS - 16 - Stamm keine präzipitierenden A - Antikörper, entwickelten jedoch eine gute Resistenz gegenüber der Marekschen Krankheit. Nach Churchill, Chubb und Baxendale (1969) verliert der HPRS - 16 - Stamm seine Kükenpathogenität nach der 33. Gewebekulturpassage und bleibt bis zur 61. Passage avirulent. Während der Zytopathogene Effekt (ZPE) und die Virusstruktur unverändert bleiben, lässt sich das A - Antigen ab der 20. bis 30. Passage und das B - C - Antigen erst ab der 77. Passage nicht mehr nachweisen.

Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen zeigten Bengelsdorff und Bernhardt (1971) in ihren Versuchen, daß sowohl Putenherpesvirus als auch Marekvirus gut präzipitierende, lösliche und zellgebundene Antigene bildet. Die Gewinnung von nachweisbaren Mengen von löslichen A - Antigenen ist nach Feststellungen dieser Autoren eine Frage der Konzentration bzw. Anreicherung. Das lösliche A - Antigen nahm in ihren Versuchen mit dem für Küken avirulenten Marekstamm VC II bei steigender Attenuierung nicht ab.

Über das Verhalten der maternalen Antikörper berichteten Bankowski und Mit. (1970). Sie fanden bis zum 10. Lebenstag bei 75 % der Küken einer RIF - und SPF - freien Elterntierherde präzipitierende Antikörper . Danach sanken die maternalen Antikörper schnell ab und waren nach dem 18. Tag nicht mehr nachzuweisen. Bülow (1970) konnte bei 75 % - 100 % der Eintagsküken präzipitierende Antikörper feststellen die bis zur 3. Woche nachweisbar waren.

Zanella und Raymondi (1970) fanden bei 33 % - 98 % der Eintagsküken maternale, präzipitierende Antikörper. Die Antikörper ließen sich in ihren Versuchen ab der 2. Woche nicht mehr nachweisen.

Chubb und Churchill (1969) verglichen die Empfänglichkeit von Eintagsküken mit und ohne maternale Antikörper. Es zeigte sich bei Küken mit maternalen Antikörpern nach der Infektion mit klassischem (HPRS - B 14) und akutem (HPRS-16) Marekstamm ein gewisser Schutzeffekt.
Eine Infektion wird durch die maternalen Antikörper jedoch nicht verhindert. Bei der Infektion mit einem Virus - Stamm der klassischen Marekschen Krankheit (Mareksche Lähme) wird bei Küken mit maternalen Antikörpern die Morbidität erheblich reduziert, bei einer Infektion mit dem Virus der akuten Marekform jedoch nur der Ausbruch der klinisch apparenten Form verzögert.

Bankowski und Mit. (1970) konnten in ihren Versuchen 12 - 14 Tage nach der Marekvirusinfektion zum erstenmal präzipitierende Antikörper nachweisen. Sowohl das Virus als auch die präzipitierenden Antikörper persistieren von dem Zeitpunkt ab.

Nach Bülow (1970) treten Präzipitine erstmals 31 Tage nach Einsatz gesunder Küken in infiziertes Milieu auf. Nach seiner Ansicht beeinflußen die zirkulierenden Antikörper nicht die Infektiosität des Vollblutes.

Bankowski und Mit. (1970) versuchten in ihren Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen dem μ - Globulinspiegel und dem Gehalt an präzipitierenden Antikörpern zu ermitteln, konnten jedoch keinen Zusammenhang feststellen. Bei mit Marekvirus infizierten Küken sank nach 75 Tagen der μ - Globulinspiegel während die Präzipitine weiter anstiegen.

Zum Nachweis von Marek - Antikörper eignet sich der Fluoreszenz - Antikörpertest (FA) (Kottaridis und Luginbuhl 1968, Nazerian und Purchase 1970) und der indirekte Hämagglutinationstest (Eidson und Schmittle, 1969).
Der einfachste Nachweis von Marekpräzipitinen und somit einer Marekinfektion gelingt im Präzipitationstest ——Agar - Gel - Doppeldiffusionstest—— (Churchill und Chubb 1968).

Chubb und Churchill gelang es 1968 zum erstenmal das für diesen Test notwendige Antigen herzustellen. Das präzipitierende Antigen wurde von Kükennierenzellkulturen gewonnen, die mit dem HPRS - 16 Stamm infiziert wurden. Wenn der ZPE 25 % oder mehr des infizierten Zellrasens verändert hatte, wurden die Zellen mit Versen - Trypsin abgelöst. Nach der Zentrifugation wurden die Zellen entweder

in den Zellkulturüberstand oder in PBS (phosphat buffered saline) (pH 7,2) resuspendiert, auf eine Konzentration von 10^6 Zellen / 0,1 ml eingestellt und dann 3 x eingefroren und aufgetaut.

1969 gelang Churchill und Mit. zum erstenmal die Vakzination gegen die Marekssche Krankheit. Als Impfvirus verwendeten die Autoren ein auf Kükennierenzellkulturen abgeschwächtes HPRS - 16 - Isolat der Tumorform der Marekschen Krankheit. Biggs und Mit. (1970) benützten ein abgeschwächtes, zellgebundenes Virus der Marekschen Krankheit, den Stamm HPRS - 16 / att. für umfangreiche Feldversuche mit insgesamt 19000 Küken. Es wurden Eintagsküken und 21 Tage alte Küken vakziniert und mit ungeimpften gleichaltrigen Kontrollen gehalten. Sowohl bei den am 1. als auch am 21. Lebenstag geimpften Küken ergab sich ein beachtlicher Schutzeffekt gegenüber der Marekschen Krankheit. Der dabei verwendete Vakzinestamm HPRS - 16/att. erwies sich nach Angabe der Autoren als völlig apathogen gegenüber Küken.

Ähnliche Versuche führten Eidson und Anderson (1971) durch, die als Vakzinestamm sowohl zellgebundenes und zellfreies Marekvirus als auch einen Putenherpesvirus - Stamm verwandten. Beide Vakzinen ergaben einen wirkungsvollen Schutz gegen die Marekssche Krankheit.
Lyophilisierte Putenherpes und Marek - Vakzine waren, wegen des bei der Gefriertrocknung auftretenden hohen Titerverlustes , weniger wirkungsvoll.

Bei der Gegenüberstellung von verschiedenen Applikationsarten, zeigte sich nach den Autoren die parenterale Impfung der intranasalen und okulären Verabreichung überlegen. Ein Unterschied im Schutzeffekt zwischen einem hohen und niedrigen Zellpassagevirus war nicht signifikant.

In neueren Versuchen (Eidson und Mit. 1971) wurden 17 Herpesvirusstämme vom Huhn als auch von Puten an 391202 Tieren auf ihre Schutzwirkung gegenüber der Marekschen Krankheit geprüft. Alle 17 Stämme waren gegenüber Küken apathogen, jedoch nur mit den Putenherpesvirusstämmen Georgia WHG und FC 126 von East Lansing ein deutlicher Schutz zu erzielen.

Vakzinationsversuche mit einem Putenherpesvirus führte 1970 Okazaki und Mit. durch. Sie impften Eintagsküken mit unterschiedlich hohen Vakzinevirusdosen und belasteten die Tiere in zeitlich variierenden Abständen mit einem JM - Marekisolat. 600 PBE eines Putenherpesvirusstammes pro Küken schützten die Tiere vor einer 3 Wochen später erfolgenden intraabdominalen Infektion und einer 2 Wochen p.i. stattfindenden Kontaktinfektion mit JM - Isolat. Die Küken bilden nach Angabe der Autoren sowohl gegen das Putenherpesvirus als auch gegen den JM - Stamm Antikörper bei gleichzeitig, weiterer Ausscheidung von Putenherpesvirus und Marekvirus.
Das Putenherpesvirus breitet sich nicht horizontal, d.h. nicht durch direkten Kontakt aus.
Neben dem deutlichen Schutzeffekt gegenüber der Marekschen Krankheit ist das Putenherpesvirus

weder kontagiös noch pathogen und besitzt so alle Charakteristika von Vakzineviren, (Okazaki und Mit. 1970).

Im Gegensatz zu Okazaki und Mit. (1970) konnten Vielitz und Landgraf in ihren Versuchen mit Putenherpesvirus erst bei 2500 PBE pro Impfdose eine deutliche Schutzwirkung gegenüber der Marekschen Krankheit feststellen.

In Feldversuchen führten Dorn und Schindler (1971) mit dem Putenherpes - Virus an 141754 Tieren die Vakzination durch. Auch hier zeigte sich eine beträchtliche Schutzwirkung gegenüber der Marekschen Krankheit. Der Immunitätsmechanismus ist bei der Vakzination gegen die Mareksche Krankheit bis jetzt unklar.
Nach Churchill und Mit. (1969) handelt es sich weder um eine humorale noch gewebsständige Immunität. Auch Interferenzwirkung und eine Interferonbildung werden ausgeschlossen. Die Vakzination mit einem attenuierten Marekvirus und das Auftreten von präzipitierenden Antikörpern verhindert die nachfolgende Test - Infektion mit einem virulenten Marekvirus nicht. Eine in vitro - Produktion von Interferon konnte nicht nachgewiesen werden.
Zu den selben Ergebnissen kamen Okazaki und Mit. (1970). Während einer Versuchsperiode von 17 - 20 Wochen waren zirkulierende Puten - Herpes - Virus - Antikörper und das Puten - Herpes - Virus selbst nachzuweisen.
Nach Purchase und Okazaki (1971) wird durch die Vakzination mit Puten - Herpes - Virus die Marek - Virusausscheidung verringert.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methoden

1. Versuchstiere und deren Haltungsbedingungen.
   Für die Versuche wurden männliche Linienhybrid - Küken verwendet. Die Küken wurden getrennt —— geimpfte Tiere und Kontrollen —— als Eintagsküken in Batterien eingestallt und bis Versuchsende in einem nicht isolierten Versuchsstall gehalten.

2. Seren und Blutentnahme
   Zur Blutentnahme wurden die Tiere an der Flügelvene im Ellbogenbereich durch Lanzettstich punktiert. Das Blut (ca. 1ml.) wurde in Einweggläsern aufgefangen und diese in einem Ständer zum Abseren in Schräglage gebracht. Danach wurden die Blutproben bei 2000 - 3000 U/Min. 10 Minuten lang zentrifugiert und das Serum unverdünnt und nicht inaktiviert verwendet.

3. Antigene
   Eigene Antigenherstellung: Zum Ansatz der Zellkulturen wurden Embryofibroblasten von 9 - 11 tägigen Hühnerembryonen verwendet. Diese wurden in Rouxschalen mit einem Anzuchtmedium (Lavit PM 13 Serva) und 5 % Kälberserum versetzt und im Brutschrank bei 38° C bebrütet. Mit dem Mediumwechsel (Erhaltungsmedium Lavit PM 13 Serva und 2 % Kälberserum) wurden die Kulturen mit dem Stamm (PHV FC 126) beimpft.

Wenn mehr als 50 % der Gewebekultur einen ZPE zeigten, wurden die Zellkulturen mit Versen - Trypsin 0,02 % geerntet. Die gewonnenen Zellen wurden 2 x mit PBS gewaschen um die Reste von Kälberserum zu entfernen. Darauf wurden die Zellen in einer Konzentration von 10^7 Zellen/ ml wieder in PBS suspendiert. Diese Suspension wurde in Trockeneis eingefroren und im Wasserbad bei 37° C wieder aufgetaut. Dieser Vorgang wurde 4 x wiederholt. Der Extrakt wurde 10 Minuten bei 3000 U/Min. zentrifugiert und der Überstand abgegossen. Das Sediment wurde in einem Ten - Broeck - Mörser homogenisiert, wieder dem Überstand zugegeben und 30 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen / Min. zur Klärung zentrifugiert.
Der Überstand wurde abgegossen und bei - 15° C aufbewahrt. Bei den Versuchen standen außerdem präzipitierende Antigene vom Typ A, B, und C der Behringwerke - Marburg zur Verfügung. [x]
Als Vakzinations - Antigen (Marekvakzine) wurde PHV FC 126 der Behringwerke eingesetzt.

4. Agar - Gel - Präzipitationstest
1 % Agar wurde in 8 % NaCl - Lösung aufgelöst und autoklaviert. Danach wurde der Agar in einem sterilen Seitz - Filter gefiltert (Filterblatt K7), auf pH 7,4 eingestellt, portioniert und abgekühlt. Nach nochmaligem Erhitzen wurden 15 ml Agar in Petrischalen (80 x 15 mm) gegossen.

[x] Auch an dieser Stelle wird den Behringwerken für die Überlassung der Antigene gedankt.

In den erstarrten Agar wurden Löcher von 7 mm zur späteren Aufnahme von Antigen und Serum gestanzt. Der Randabstand zweier Löcher betrug jeweils 3,5 mm. In die ausgestanzten Löcher wurde ein Tropfen flüssiger Agar zur Abdichtung gefüllt. Die endgültige Tiefe des Stanzloches betrug 2,5 mm. Die Petrischalen wurden in einer feuchten Kammer bei 20°C aufbewahrt und die Reaktion nach 24 und zur nochmaligen Kontrolle nach 48 Stunden abgelesen. In jedem Ansatz wurden positive Kontrollseren und positive Antigene mitgeführt.

II. Verfolgsuntersuchungen von Elterntierherden auf präzipitierende Marek - Antikörper.

Um das Verhalten der präzipitierenden Marek - Antikörper zu verfolgen, wurden von 8 Betrieben jeweils in der 18., 24. und 41. Woche im Zuge routinemässiger PPLO - Kontrollen Blutproben entnommen und auf präzipitierende Antikörper im Agar - Gel - Diffusionstest untersucht.
Verwendet wurde präzipitierendes Marek - Antigengemisch A - B - C (Behring) und A - Antigen (Behring) und vergleichend dazu Putenherpesvirus - Antigen eigener Herstellung.
In Fig. 1 a ist der prozentuale Anteil positiver Reaktionen bei den Betrieben I - IV in Fig. 1 b der Betriebe VI - XI dargestellt.
Nach der 24. Woche verringert sich der Anteil positiver Befunde mit Ausnahme des Betriebes VI.
In allen Betrieben wurden bei der Probeentnahme in der 39. - 43. - Woche wieder eine zunehmende Zahl positiver Reaktionen nachgewiesen.

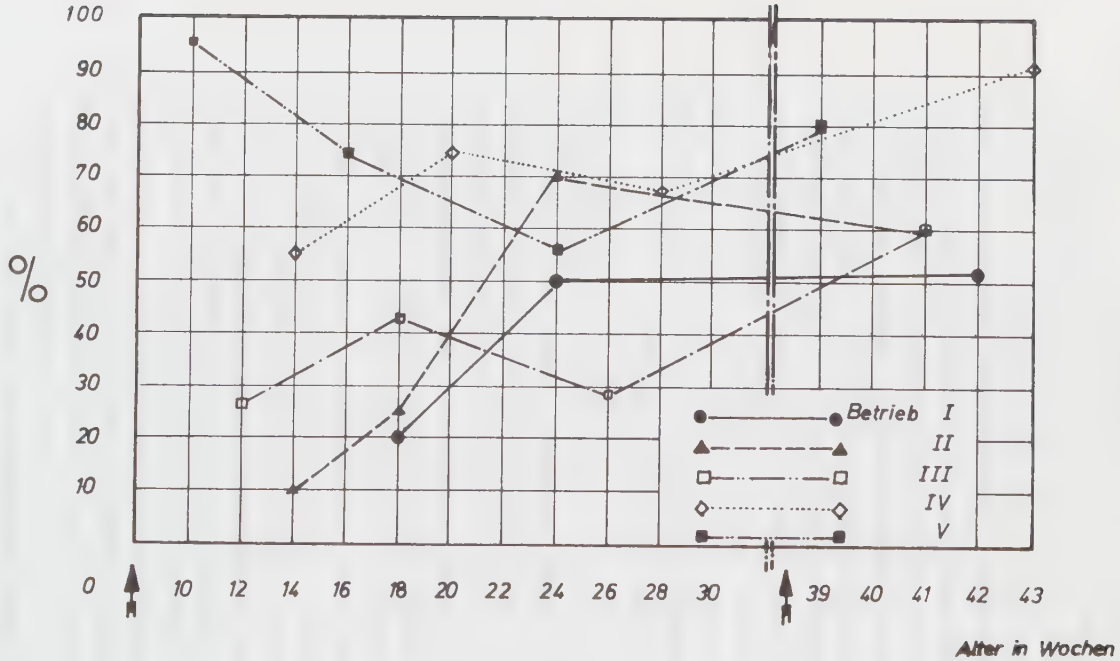

Fig. 1 a Prozentualer Anteil positiver Präzipitationen auf Marek

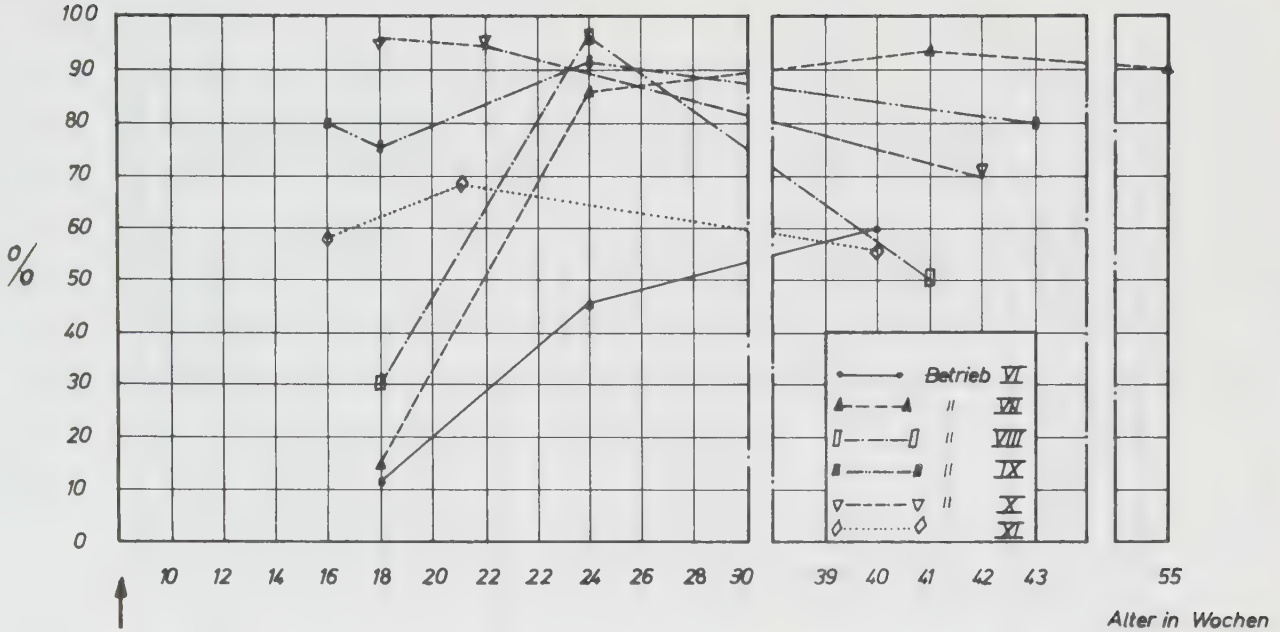

Fig. 1b Prozentualer Anteil positiver Präzipitationen auf Marek

	10-14.Woche		15-18.Woche		19-22.Woche		24-28.Woche		39-43.Woche	
	Zahl	pos.Präz. in %	Zahl	pos.Präz. in %	Zahl	pos.Präz. in %	Zahl	pos.Präz. in %	Zahl	pos.Präz. in %
MAST-TYP	200	92	500	56	—	—	400	74	400	65
LEGE-TYP	300	31	400	45	400	84	400	53	500	66

TAB. I Prozentualer Anteil positiver Präzipitationen verschiedener Alters - Klassen bei Mast - und Legetyp.

Der Anteil positiver Präzipitations - Reaktionen schwankte zwischen 10 % (Kurve II) 96 % (Kurve XI).
In Tabelle I wurden diese Ergebnisse aus 3500 Präzipitationseinzeluntersuchungen nach Elterntieren der Mast - und Legerasse altersmäßig aufgeschlüsselt. Während bei den Mastrassen zwischen der 10. - 14. Woche 92 % positive Reaktionen auftraten, betrug der Anteil positive Reaktionen der Legerassen nur 31 %.
Die Herden des Legetyps waren als Eintagsküken mit Putenherpesvirus gegen Marek vakziniert.

III. Untersuchungen von Eintagsküken auf präzipitierende Marek - Antikörper.

1. Untersuchungen über maternale Antikörper.

Zur Untersuchung auf maternale Antikörper wurden aus 3 Betrieben stichprobenweise je 100 männliche Eintagsküken aus 3 verschiedenen Schlupfen entnommen, entblutet und im Präzipitationstest untersucht. Verwendet wurde A - Antigen (Behring).
In Tabelle II sind die Ergebnisse zusammengefaßt.

Betrieb	Anzahl der Seren	1.Schlupf	2.Schlupf	3.Schlupf
I	100	72 % pos.	66 % pos.	20 % pos.
II	100	48 % pos.	33 % pos.	25 % pos.
III	100	30 % pos.	25 % pos.	60 % pos.

Tab. II Prozentualer Anteil positiver maternaler Antikörper.

Die Ergebnisse schwanken zwischen 20 % und 72 % positiver Präzipitations - Reaktionen.

2. Untersuchungen über maternale Antikörper Marek - vakzinierter und nicht vakzinierter Eintagsküken.

a) 50 Eintagsküken wurden mit 0,3 ml Vakzine (PHV FC 126) intramuskulär geimpft und in Batterien eingestallt. Als Kontrolle dienten 50 ungeimpfte Küken aus demselben Schlupf. Alle 5 Tage erfolgte Blutentnahme und Auswertung im Präzipitations - Test. Als Antigen wurde ein A - B - C - Antigengemisch (Behring) verwendet.
Fig. 2 zeigt den prozentualen Anteil positiver Reaktionen in den ersten Lebenstagen und das Absinken der Antikörper während der ersten 2 Lebenswochen. Ab dem 30. Tag steigen die Antikörper bei der vakzinierten Gruppe bis auf 60 % an. Bei der nicht vakzinierten Gruppe konnten während der Versuchsperiode von 68 Tagen keine Antikörper nachgewiesen werden.

b) In einem Wiederholungsversuch wurden 25 Eintagsküken mit 0,2 ml Marekvakzine (PHV FC 126) intramuskulär geimpft und mit 25 Kontrollen aus dem gleichen Schlupf in Batterien eingestallt. Die Blutentnahme erfolgte alle 7 Tage und die weitere Auswertung wie Versuch a. Verwendet wurde A - Antigen (Behring).
Fig. 3 zeigt in der 1. - 3. Woche einen ähnlichen Abfall der Antikörper wie in Versuch 2 a bis zum 21. Tag und Anstieg ab dem 49. Tag bei der nicht vakzinierten Gruppe.

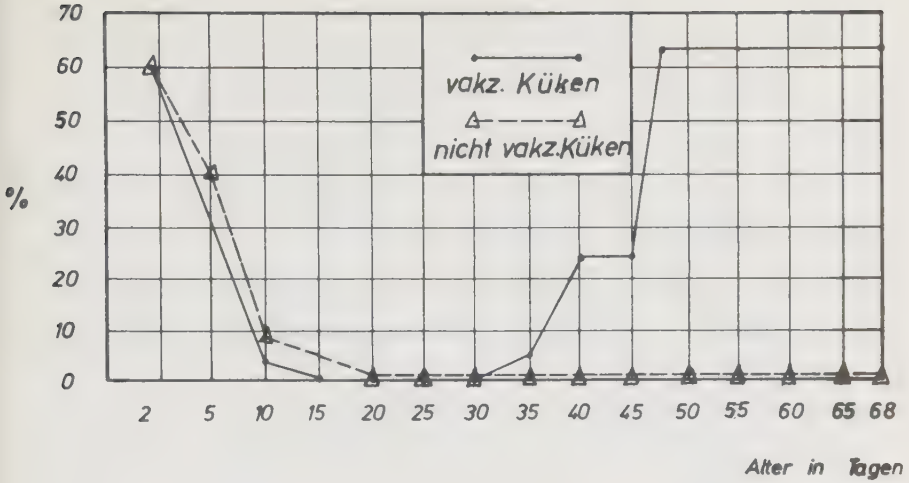

Fig. 2 Verfolgsuntersuchungen auf präzipitierende Marek-Antikörper bei vakzinierten und nicht vakzinierten Küken mit A-B-C-Antigen

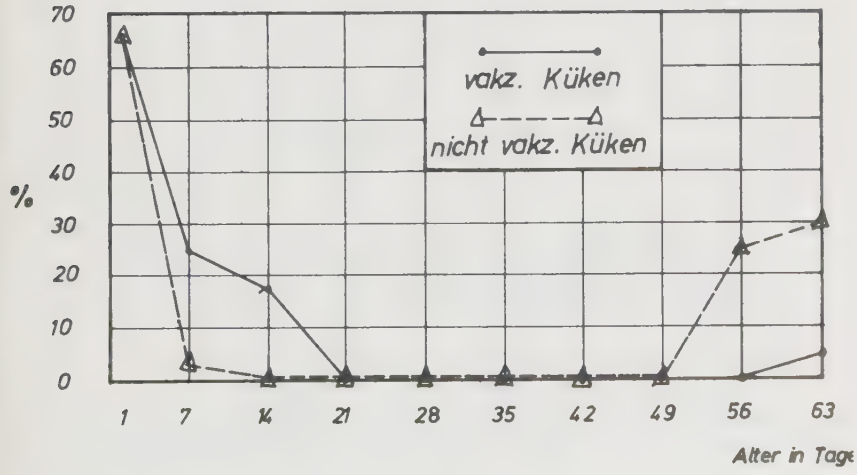

Fig. 3 Verfolgsuntersuchungen auf präzipitierende Marek-Antikörper bei vakzinierten und nicht vakzinierten Küken mit A-Antigen.

Ab dem 56. Lebenstag bis zum Versuchsende am 63. Versuchstag wurde bei den nicht vakzinierten Küken ein deutlicher Anstieg der präzipitierenden Antikörper nachgewiesen. Zum Versuchsende wurden auch bei 4 % der vakzinierten Tiere positive Präzipitations - Reaktionen festgestellt.

c) Bei diesem Versuch wurden 30 Eintagsküken mit 0,2 ml Marekvakzine (PHV FC 126) vakziniert und mit 20 nicht vakzinierten Kontrollen aus demselben Schlupf eingestallt. Antigen A und Antigen B - C wurden zu vergleichenden Untersuchungen eingesetzt.
In Fig. 4 a sind die prozentualen Ergebnisse der Präzipitations - Reaktionen mit A - Antigen, in Fig. 4 b mit B - C - Antigen graphisch dargestellt. In der vakzinierten und nicht vakzinierten Gruppe sinken die maternalen Antikörper in den ersten 2 Wochen ab. Bei vergleichender Verwendung beider Antigene zeigt sich ab dem 50. Versuchstag ein starker Anstieg positiver Präzipitationen bei der nicht vakzinierten Gruppe. 2 Wochen später reagierte auch ein Teil der vakzinierten Tiere positiv (20 %).

IV. Untersuchungen über die Bildung präzipitierender Antikörper nach unterschiedlicher Vakzine - Konzentration.

28 Versuchshähne im Alter von 10 Wochen wurden in Versuchsgruppen zu 4 Tiere auf-

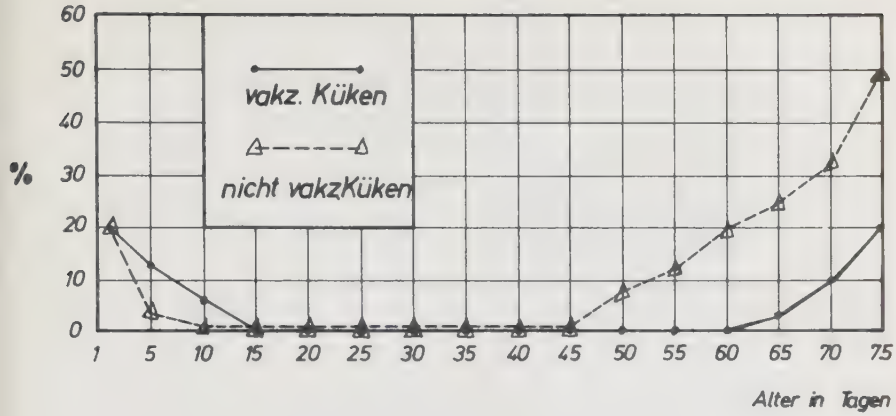

Fig. 4 a Verfolgsuntersuchungen auf präzipitierende Marek-Antikörper bei vakzinierten und nicht vakz. Küken mit A - Antigen

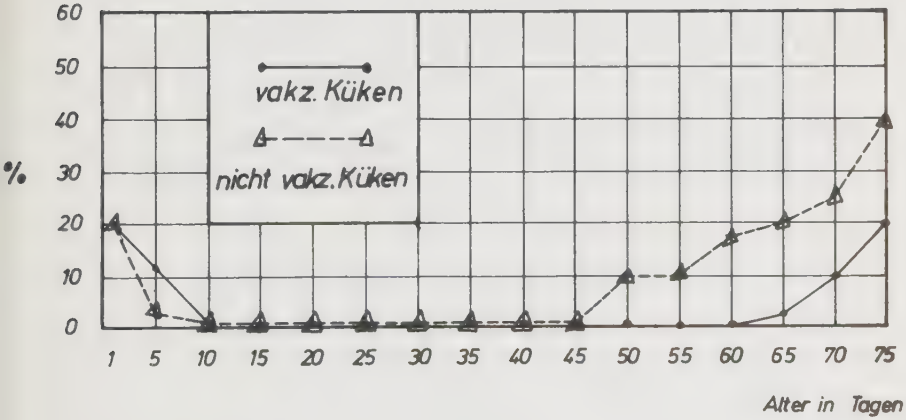

Fig. 4 b Verfolgsuntersuchungen auf präzipitierende Marek-Antikörper bei vakzinierten und nicht vakzinierten Küken mit B-C-Antigen

gestallt und im gleichen Versuchsstall 4 gleichaltrige Hähne gleicher Aufzucht als Kontrollgruppe eingestallt. Die einzelnen Gruppen wurden mit unterschiedlich hohen Impfdosen (Plaque Bildende Einheiten = PBE) einer Putenherpesvakzine (Behring) intramuskulär vakziniert. An 10 Blutentnahmen während der Versuchsdauer von 31 Tagen wurden die Versuchsgruppen und die Kontrollgruppen auf präzipitierende Marek - Antikörper mit A - B - C - Antigen untersucht.
Die Ergebnisse sind in Tab. III zusammengestellt.
Die Versuche zeigten auch bei hohen Vakzinekonzentrationen keinerlei Unverträglich - keitserscheinungen. Bis zum 19. Versuchstag ist in der Zahl der Reaktionen und deren Auftreten p.v. eine deutliche Abhängigkeit von der Vakzinekonzentration zu erkennen. Ab dem 23. Versuchstag traten auch in der Kontrollgruppe positive Reaktionen auf.

Impfdosen in PBE / Tier	Versuchstag									
	2.	4.	6.	10.	13.	17.	19.	23.	27.	31.
7500	0	0	0	0	0	1	1	2	2	3
15000	0	0	0	0	0	2	2	2	2	3
30000	0	0	0	0	0	3	3	4	4	4
60000	0	0	0	0	0	2	2	3	3	4
120000	0	0	0	0	1	0	0	1	1	3
240000	1	1	1	1	1	2	2	3	3	3
480000	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Kontrollen	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2

Tab. 3 Anzahl positiver Präzipitationen in Abhänigkeit von der Vakzine - Konzentration (Putenherpesvirus - Vakzine).

D. DISKUSSION

Die Autoren Chubb und Churchill (1968) berichteten über die Technik der Antigenherstellung für die Durchführung der Marekpräzipitation. Ianconescu und Samberg (1970) führten mit dieser Technik Reihenuntersuchungen durch und konnten zeigen, daß alle Herden die 12 Wochen und älter waren bis zu 90 % präzipitierende Antikörper gegen die Marekssche Krankheit hatten. Mit diesen Ergebnissen stimmen die eigenen Untersuchungen (Versuch II) an 3500 Einzelblutproben aus Elterntierbeständen des Mast - und Legetyps überein. Die graphische Auswertung dieser Versuche zeigt einen auffallend divergierenden Antikörperstatus im Zeitraum der 10. - 14. Lebenswoche.
In dieser Altersperiode ergaben die Herden des Masttyps einen Durchschnitt von 92 Prozent positiver Reaktionen (Tab. I).
Zanella und Raymondi (1970) kamen in ihren Reihenuntersuchungen bei Masttieren zu ähnlichen Ergebnissen. Im Gegensatz zu den Masttieren zeigen Herden des Legetyps in den eigenen Untersuchungen eine wesentlich geringere Zahl positiver Reaktionen (31 %). Dies dürfte mit der bei diesen Herden im Eintagskükenalter durchgeführten Marekvakzination zusammenhängen.
Diese Interpretation der Versuchsergebnisse ließe sich aus den Untersuchungen von Purchase und Okazaki (1971) ableiten. Die Autoren konnten zeigen, daß durch die Vakzination mit Putenherpesvirus die Marekvirusausscheidung stark verringert und somit der Infektionsdruck reduziert wurde.

Die quantitative Untersuchung auf maternale Antikörper bei Eintagsküken zeigte, daß bei jedem Schlupf Küken mit maternalen Antikörpern vorhanden waren.
Bankowski und Mit. (1970) wiesen bei 75 % der Küken während der ersten 10 Tage präzipitierende Marek - Antikörper nach. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Chubb und Churchill (1968) und Zanella und Raymondi(1970). Die im Versuch III/1 erhaltenen Ergebnisse sind als Stichprobenuntersuchungen zu werten. Sie zeigen beträchtliche Unterschiede im Anteil präzipitierender Antikörper, die auf verschieden hohen Antikörperspiegel der Elterntierherden zurückzuführen sind. Die Untersuchung von Eintagsküken gestattet ohne größeren Aufwand den Nachweis präzipitierender Marek - Antikörper und damit eine Beurteilung des Antikörper - Status der betreffenden Elterntierherde.

Die Verfolgsuntersuchungen auf präzipitierende Marek - Antikörper des Versuches III/ 2 a bestätigen das aus der Literatur (Bankowski und Mit. 1970; Chubb und Churchill, 1968; Zanella und Raymondi, 1970) bekannte rasche Absinken der maternalen Marek - Antikörper während der ersten 3 Lebenswochen. Auffallend in diesem Versuch ist das Auftreten eines zunehmenden Prozentsatzes präzipitierender Antikörper ab dem 35. Versuchstag bei der am 1. Lebenstag mit Putenherpesvakzine vakzinierten Kükengruppe. Obgleich diese Gruppe und die nicht vakzinierte Kontrollgruppe aus einheitlicher Herkunft und im gleichen Versuchsstall aufgezogen und gehalten wurde und nicht unter Isolationsbedingungen standen, traten bei der nicht vakzinierten Kontrollgruppe bis zur 10. Lebenswoche keine positiven Präzipitationen auf. Dies läßt darauf schliessen, daß der in Figur 2 dargestellte prozentuale Anstieg der präzipitierenden Antikörper durch das Putenherpesvirus und nicht durch eine Marek - Feldinfektion induziert ist.

Im Versuch III / 2 b wurde das rasche Absinken der maternalen Antikörper bis zur 3. Woche wiederum bestätigt. Bis zum 49. Versuchstag verliefen die Präzipitations - Reaktionen negativ und nach dem 49. Versuchstag wurden in beiden Gruppen wieder präzipitierende Marek - Antikörper nachgewiesen. Nachdem auch diese Versuchsgruppen nicht in marekfreier Umgebung aufgezogen und gehalten wurden, war der besonders hohe Anstieg präzipitierender Antikörper zu erwarten. Einen analogen Verlauf nahm der Versuch III / 2 c. Auch hier wurden nach dem 45. Versuchstag bei den beiden Versuchsgruppen präzipitierende Antikörper in unterschiedlichen prozentualen Anteilen nachgewiesen. Der Antikörperanstieg erfolgte bei der nicht vakzinierten Versuchsgruppe ebenfalls wesentlich früher und in höherem Ausmaß als bei der vakzinierten Gruppe. Diese beiden Wiederholungsversuche III / 2 b und III / 2 c zeigen, daß in diesen Versuchsgruppen eine Marekfeldinfektion stattgefunden hatte. Der deutlich verzögerte und prozentual niedrige Anteil positiver Marek - Präzipitationen dürfte auf die Vakzination mit dem Putenherpesvirus und die daraus resultierende Schutzwirkung zurückzuführen sein. In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von Witter und Mit. (1971) anzuführen, die zeigen konnten, daß bei Marekinfektionsversuchen eine enge Relation zwischen Virusvermehrung und Bildung präzipitierender Antikörper besteht. Zwischenzeitlich liegen eine Anzahl von Labor - und Feldversuchen vor, die die hohe Schutzwirkung der Putenherpesvirusvakzine gegenüber Marekinfektion bestätigen.

(Okazaki und Burmester, 1970; Vielitz und Landgraf, 1970; Dorn und Schindler, 1971; Eidson und Mit. 1971) .

Die zuletzt diskutierten Versuche III / 2 a , III / 2 b und III / 2 c lassen den Schluß zu, daß sowohl das Einzelantigen A, als auch die Antigenkombination B - C und das Antigengemisch A - B - C für diagnostische Untersuchungen zum Nachweis präzipitierender Herpesvirus - Antikörper des Geflügels geeignet sind. Eine Differenzierung präzipitierender Putenherpes - und Marek - Antikörper ist jedoch nach den Untersuchungen von Bengelsdorff und Bernhardt (1971) im Agar - Gel - Test nicht möglich.
Die Autoren konnten zeigen, daß auch das Putenherpesvirus neben der B - C - auch eine A - Antigenkomponente enthält.

Die Ergebnisse des Versuches IV zeigen eine Relation zwischen Vakzineviruskonzentration und Auftreten präzipitierender Antikörper.
Witter und Mit. (1971) konnten erstmals 12 - 14 Tage nach Infektionen mit Marekvirus präzipitierende Antikörper nachweisen. Im Versuch IV war dies mit 7500 - 60000 PBE einer Putenherpesvakzine in etwa der Fall. Wesentlich höhere Viruskonzentrationen der eigenen Versuche führten zum Auftreten von präzipitierenden Antikörpern schon ab dem 2. Versuchstag.
Die positiven Präzipitations - Reaktionen in der Kontrollgruppe ab dem 19. Versuchstag, lassen den Schluß zu, daß zumindest ab diesem Zeitpunkt eine Marekfeldinfektion stattgefunden hatte.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Mit Marekvirus - Antigen und Putenherpes - Virus - Antigen wurden 5900 Präzipitations - Reaktionen im Agar - Gel - Diffusionstest durchgeführt.

2. In serologischen Verfolgsuntersuchungen von Elterntierherden des Mast - und Legetyps wurden positive Präzipitations-Reaktionen auf Marek - Antikörper zwischen 10 und 92 Prozent ermittelt.

3. Bei stichprobenweisen Präzipitationsuntersuchungen auf Marek - Antikörper an Eintagsküken schwankten die positiven Befunde maternaler Antikörper zwischen 20 und 72 Prozent.

4. Verfolgsuntersuchungen während der ersten 10 Lebenswochen zeigten ein Absinken maternaler Antikörper während der ersten 2 - 3 Lebenswochen. Bei vakzinierten und nicht vakzinierten Versuchsgruppen wurden ab der 5. - 7. Lebenswoche prozentual unterschiedlich häufige Präzipitations - Reaktionen ermittelt.

5. Steigende Vakzinekonzentrationen beschleunigen das Auftreten Vakzinations-bedingter präzipitierender Antikörper.

6. Zum Nachweis präzipitierender Antikörper sind die A - Antigene, die B - C - Antigene und das A - B - C - Antigen - Gemisch in etwa gleicher Weise geeignet.

E. SUMMARY

1. 5900 precipitation-reactions in Agar-Gel-diffusion test were carried out by use of Marekvirus- and turkeyherpesvirus-antigen.

2. Positive precipitation-reactions on Marek-antibodies from 10 to 92 per cent were found out in serological examinations in layer-parents and broiler-breeder, which were proved periodically.

3. In random-tests of precipitation on Marek-antibodies by one day old chickens, the positive results of maternal antibodies varied from 20 to 72 per cent.

4. Examinations during the first ten weeks of life show a decreasing of maternal antibodies during the first two to three weeks of life. Precipitation-reactions, which were carried out after the fifth to seventh week of life showed procentually differing results in vaccinated and non-vaccinated test-groups.

5. Increasing concentrations of vaccine accelerate the appearance of precipitating antibodies dependent on vaccination.

6. The A-antigen, the B-C-antigen and the mixture of A-B-C-antigen are eqally qualified to prove precipitating antibodies.

F. LITERATURVERZEICHNIS

Bankowski R.A., T. Mikami and B. Reynolds (1970)
The relation between infection of chickens with MD and the presence of precipitin antibodies.
Av.Dis. 14, 723-737

Bengelsdorff, A.J., Bernhardt, D. (1971)
Vergleichende Untersuchungen von Putenherpes - und Marek - Disease - Virus - Antigen in der Agar - Gel - Präzipitation.
Vortrag auf dem Welttierärztekongreß (1971) in Mexiko.

Biggs, P.M., A.E. Churchill, D.G. Rootes, R.C. Chubb (1968)
The etiology of Marek's disease - an oncogenic herpes - type virus.
Perspectives in Vir. 6, 211-220

Biggs, P.M., L.N. Payne, D.S. Milne, A.E. Churchill, R.C. Chubb (1970) Field trials with an attenuated cell associated vaccine for Marek's disease.
Vet. Rec. 87, 704-709

Burmester, B.R., R.L. Witter, K. Nagiria, H.G. Purchase (1969)
A Herpesvirus as a cause of MD in chickens.
Recent Results in Cancer Research. Special Supplement. p. 460-468 Springer Verlag New York

Vicco von Bülow (1970)
Kongreßbericht Deutsche Vet.-Med. Ges., Fachgruppen Geflügelkrankheiten und Virologie 1970. (Kitzingen)

Calnek, B.W., Hans K. Adldinger, Donald E. Kahn (1970)
Feather Follicle Epithelium: A source of enveloped and infectious cell free Herpesvirus from Marek's disease.
Av.Dis. 14, 219-233

Chubb, R.C., M.Sc. and A.E. Churchill (1968)
Precipitating antibodies associated with MD
Vet. Rec. 83, 4-7

Chubb, R.C., M.S. and A.E. Churchill (1969)
Effect of maternal antibody an MD.
Vet. Rec. 85, 303-305

Churchill, A.E. and P.M. Biggs (1967)
Agent of Marek's disease in tissue culture.
Nature 215, 528-530

Churchill, A.E. (1968)
Herpes type virus isolated in cell
cultures from tumours of chickens with MD
I. Studies in cell cultures.
J.Natl. Cancer Inst. 41, 939-950

Churchill, A.E. and P.M. Biggs (1968)
Herpes type virus isolated in cell culture from tumours
of chickens with MD, II Studies in vivo.
J.Natl. Cancer Inst. 41, 951-956

Churchill, A.E. Payne, L.N. and Chubb,R.C. (1969)
Immunization against MD using a live attenuated virus.
Natur London 221, 744-747

Churchill, A.E., R.C. Chubb, W. Baxendale (1969)
The attenuation with loss of oncogenicity of the Herpes
type of Marek's disease (Strain - HPRS - 16) on passage
in cell culture.
J.of Gen. Vir. 4, 557-564

Colwell, W.M. and S.C. Schmittle (1968)
Studies on acute MD. VII Airborne transmission of the
GA isolate. Av.Dis. 12, 724-729

Dorn, P. und P. Schindler (1971)
Die Marekssche Krankheit und ihre Bekämpfung durch
Vakzination. DTW 14, 389-392

Eidson, C.S. and S.C. Schmittle (1969)
Studies on acute Marek's disease XII Detection of
antibodies with a tannic acid indirect Hemagglutination
Test. Av.Dis. 13, 774-782

Eidson, C.S. and D.P. Anderson (1970)
Immunization against Marek's disease.
Av.Dis. 15, 68-81

Eidson, C.S., D.P. Anderson, S.H. Kleven and J.Brown (1971)
Field trials of vaccinis for Marek's disease.
Av. Dis. 15, 312-322

Ianconescu, M. and Y. Samberg (1971)
Etiological and immunological studies in Marek's disease II. Incidence of Marek's disease precipitating antibodies in commercial flocks and in eggs.
Av.Dis. 15, 177-186

Kawamura, H., D.J. King, D.P. Anderson (1969)
A herpesvirus isolated from kidney cell cultures of normal turkeys.
Av.Dis. 13, 853-863

Kenzy, S.G. and P.M. Biggs (1967)
Excretion of the MD agent by infected chickens.
Vet.Rec. 80, 565-568

Kottaridis, S.D., R.E. Luginbuhl and T.W. Chomiak (1968)
Antigenic components demonstrated by the Immuno-diffusionstest.
Av.Dis. 12, 394-401

Kottaridis,S.D. and R.E. Luginbuhl (1968)
Marek's disease : III Immunofluorescent studies.
Av.Dis. 12, 383-393

Lee, L.P., B. Raizmann, P.G.Spear, E.D. Kieff, B.R. Burmester and K. Nazerian. (1969)
Marek's disease herpesvirus : A cytomegalovirus ?
Proc. Natl. Acad. Science 64, 952-956

Nazerian, K., J.J. Solomon, R.L. Witter and B.R. Burmester (1968 a)
Studies on the etiology of Marek's disease. II. Finding of a herpes virus in cell culture.
Proc.Soc.Exptl. Biol. Med. 127, 177-182

Nazerian, K. and B.R. Burmester (1968 b)
Electron microscopy of a herpesvirus associated with the agent of Marek's disease in cell culture.
Cancer Research 28, 2454-2462

Nazerian, K. , Purchase, H.G. (1970)
Combined fluorescent antibody and electron microscopy of MD virus infected cell culture.
J.Virology 5, 79-93

Okazaki William, H.G. Purchase and B.R. Burmester (1970)
Protection against MD by vaccinating with a herpes - virus of turkeys.
Av.Dis. 14, 413-428

Purchase, H.G. and W. Okazaki (1971)
Effect of vaccination with herpes virus of turkeys (HVT) on horizontal spread of Marek's disease herpes virus.
Av.Dis. 15, 391-397

Rispens, B.H., H.J. Maas, J. van Vloten (1970)
De ziekte van Marek : enkele kanttekeningen met betrekking tot de bestrijding.
Tijdschrift voor Diergeneskunde 95, 971-980

Sevoian Martin (1968)
Egg transmission studies of type II Leukosis infection (MD)
Veterin.Med. Small Animal Clinician 63, 973-974

Solomon, J.J., R.L. Witter, H.A. Stone and R.L. Champion (197(
Evidence against embryo transmission of Marek's disease virus
Av.Dis. 14, 752-762

Vielitz und Landgraf (1970)
Beitrag zur Epidemiologie und Kontrolle der Marekschen Krankheit. DTW Aug., 357-362

Witter, R.L., G.H. Burgoyne and J.J. Solomon (1968 a)
Preliminary studies on cell cultures infected with MD agent.
Av.Dis. 12, 169-185

Witter, R.L., G.H. Burgoyne and B.R. Burmester (1968 b)
Survival of MD agent in Litter and Droppings.
Av.Dis. 12, 522-529

Witter, R.L., J.J. Solomon, G.H. Burgoyne (1969 a)
Cell culture techniques for primary isolation of Marek's disease - associated herpesvirus.
Av.Dis. 13, 101-118

Witter, R.L., G.H. Burgoyne and J.J. Solomon (1969 b)
Evidence for a herpesvirus as an etiologic agent of Marek's disease.
Av.Dis. 13, 171-184

Witter, R.L., H.G. Purchase, G.H. Burgoyne (1970)
Isolation from turkeys of a cell associated herpesvirus antigenically to Marek's disease virus.
Am. J. Vet. Res. 31, 525-538

Witter, R.L. (1970)
Epidemiological studies relating to the control of Marek's disease.
World's Puoltry Science Journal 26, 755-762

Witter, R.L., J.J. Solomon, L.R. Champion and K. Nazerian (1971)
Long term studies of Marek's disease (infection in individual chickens)
Av.Dis. 15, 346-363

Woernle (1966)
The use of the Agar - Gel - Diffusion Technique in the identification of certain Avian Virus diseases.
The Vetrinarian, 4, 17-28

Zanella, A., s. Raymondi (1970)
Indagine Sierologica con il test di Immunodiffusione nella malattia di Marek.
Clin. vet. Milano 92, 12 424-428

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich Herrn Privatdozent Dr. P. Dorn für die Überlassung des Themas und für die allzeit gewährte Unterstützung und die wertvollen Anregungen danken.

LEBENSLAUF

Am 16.10. 1942 wurde ich als Sohn des Schreiners Oskar Fastner und seiner Ehefrau Rosina, geb. Randak, in Prachatitz / CSSR geboren.

Von 1948 bis 1953 besuchte ich die Volksschule in Dietfurt, Landkreis Riedenburg. Danach besuchte ich die Oberealschule in Neumarkt / Opf., an der ich im Juli 1964 das Abitur machte.

Im November 1964 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig - Maximilian - Universität in München. Hier bestand ich im Frühjahr 1967 die tierärztliche Vorprüfung und beendete im November 1969 mein tiermedizinisches Studium mit dem Staatsexamen.

Im Februar 1970 erhielt ich vom Bayerischen Innenministerium die Bestallung als Tierarzt.